

AD

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-172186

(43)公開日 平成6年(1994)6月21日

(51)IntCl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
A 6 1 K 31/70	A E D	8314-4C		
	A B X			
C 1 2 N 9/99				
// A 2 3 L 1/30		Z		
C 0 7 H 19/06				

審査請求 未請求 請求項の数5(全4頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平4-350738

(22)出願日 平成4年(1992)12月4日

(71)出願人 000003698

富山化学工業株式会社  
東京都新宿区西新宿3丁目2番5号

(72)発明者 村上 昭八

富山県富山市奥田寿町4-15

(72)発明者 宮浦 達也

富山県富山市下奥井1-6-30

(72)発明者 能見 寿彦

富山県富山市牛島本町1-1-38

(72)発明者 高木 明子

富山県上新川郡大沢野町西大沢199

(72)発明者 船木 純子

富山県富山市犬島7-4-20

(54)【発明の名称】 アシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素阻害

剤

(57)【要約】 (修正有)

【目的】ピリミジン塩基、プリン塩基等を有効成分として含有するアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素阻害剤を提供する。

【構成】ピリミジン塩基、プリン塩基、ピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドから選ばれる一種以上を有効成分として含有するアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素阻害剤。

【効果】ピリミジン塩基、プリン塩基、ピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドは、アシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素の阻害作用を有するため、動脈硬化症の関連する諸疾患の予防、治療に有用である。

BEST AVAILABLE COPY

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】ピリミジン塩基、プリン塩基、ピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドから選ばれる一種以上を有効成分として含有するアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素阻害剤。

【請求項2】ピリミジン塩基がチミン、ウラシルまたはシトシンである請求項1記載のアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素阻害剤。

【請求項3】プリン塩基がアデニン、グアニンまたはヒポキサンチンである請求項1記載のアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素阻害剤。

【請求項4】ピリミジンまたはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドがアデノシン、グアノシン、シチジン、ウリジン、チミジンまたはイノシンである請求項1記載のアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素阻害剤。

【請求項5】ピリミジンまたはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドがアデニル酸、グアニル酸、シチジル酸、ウリジル酸、チミジル酸またはイノシン酸である請求項1記載のアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素阻害剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ピリミジン塩基、プリン塩基、ピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドから選ばれる一種以上を有効成分として含有するアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素（ACAT）阻害剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】アシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素を阻害することにより、食事由来のコレステロールおよび肝臓から排泄されたコレステロールの腸管からの吸収および再吸収を抑制し、血中コレステロールを低下させることができ、また、マクロファージの泡沫化を抑制し、動脈壁におけるコレステロールエステルの蓄積および貯蔵を減少させ、アテローム性動脈硬化病変の形成あるいは進展を抑制することができる。したがって、アシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素を阻害する物質は、脂質低下作用と同時に動脈硬化症の関連する諸疾患、たとえば、一過性虚血発作、狭心症、心筋梗塞、末梢性血栓および閉塞などの予防、治療に有用であるとの考えからアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素の阻害剤の研究が行われている〔ザ・リビッド（The Lipid）、第2巻、第1号、第43-54頁（1991年）など〕。一方、ピリミジン塩基、プリン塩基、ピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分と

するヌクレオチドがアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素の阻害作用を有することは知られていない。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、新規で有用なアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素の阻害剤を提供することである。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】かかる状況下、本発明者らは鋭意研究の結果、意外にも、ピリミジン塩基、プリン塩基、ピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドが顕著なアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素の阻害作用を有することを見だし、本発明を完成させた。

【0005】つぎに、本発明を詳細に説明する。本発明のピリミジン塩基としては、チミン、ウラシルおよびシトシンなど；プリン塩基としては、アデニン、グアニンおよびヒポキサンチンなど；ピリミジンまたはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドとしては、シチジン、ウリジンもしくはチミジンまたはアデノシン、グアノシンもしくはイノシンなど；ピリミジンまたはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドとしては、シチジル酸、ウリジル酸もしくはチミジル酸またはアデニル酸、グアニル酸もしくはイノシン酸などが挙げられる。また、ピリミジン塩基、プリン塩基、ピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドは、たとえば、アデニン塩酸塩、アデニン硫酸塩、グアニン塩酸塩、グアニン硫酸塩、アデニル酸ナトリウム、シチジル酸ナトリウム、グアニル酸ナトリウム、ウリジル酸ナトリウムおよびイノシン酸ナトリウムなどのように、塩酸もしくは硫酸などの鉱酸またはナトリウムもしくはカリウムなどのアルカリ金属と塩を形成していてもよい。

【0006】ピリミジン塩基、プリン塩基、ピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドは、天然物から得られるものおよび化学合成で得られるもののいずれでもよい。

【0007】本発明のピリミジン塩基、プリン塩基、ピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはピリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドから選ばれる一種以上を有効成分として含有するアシル補酵素A：コレステロールアシル転移酵素の阻害剤は、医薬品または食品の形態として提供される。

【0008】医薬品の形態としては、通常知られた剤形、たとえば、経口投与用には、錠剤、散剤、顆粒剤、糖衣錠、カプセル剤および液剤など；非経口投与用には、懸濁液、液剤、乳剤、アンブルおよび注射剤などが

BEST AVAILABLE COPY

挙げられ、これらを組み合わせた形態でもよい。

【0009】医薬品製剤とするには、有効成分に、必要に応じて、乳糖、無水乳糖、マンニトール、コーンスターチおよび結晶セルロースなどの賦形剤；ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドンおよびメチルセルロースなどの結合剤；カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロースおよび部分 $\alpha$ 化デンプンなどの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウムおよびステアリン酸などの滑沢剤；ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メタアクリル酸アクリル酸コポリマーおよびヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートなどのコーティング剤；マンニトールなどの等張化剤；パラオキシ安息香酸メチルなどの保存剤；およびベンジルアルコールなどの無痛化剤などを用いて、当業者が通常行う方法で行えばよい。また、医薬品として投与する場合、投与方法、投与量および投与回数は、患者の年齢、体重および症状によって適宜選択できるが、ビリミジン塩基、プリン塩基、ビリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはビリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドとして0.1-100mg/kgでよい。

【0010】食品の形態としては、たとえば、調味料、菓子類、シロップ類、果実加工品、野菜加工品、畜肉加工品、魚肉製品、珍味類、缶詰・瓶詰類、清涼飲料および即席食品類などの通常知られた飲食物への添加物が挙げられる。ビリミジン塩基、プリン塩基、ビリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはビリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオチドの食品への配合は常法に従えばよい。配合量は、1日の摂取量が0.5-6.0gでよい。

【0011】

【実施例】つぎに、本発明を具体的に実施例を挙げて説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

#### 実施例1

〔ビリミジン塩基およびプリン塩基のアシル補酵素A：コレステロールアシル転位酵素の阻害作用〕グッドマン(Goodman)の方法〔ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー(J. Biol. Chem)第239巻、第5号、第1335-1345頁(1964年)〕に準じて行った。

(1)アシル補酵素A：コレステロールアシル転位酵素の調製

ラット肝臓20gをシュクロース緩衝液〔0.2Mシュクロース、0.05M塩化カリウム、0.1Mリン酸カリウム緩衝液(pH 7.4)〕で洗浄した後、ラット肝臓をハサミで細切れにし、シュクロース緩衝液50ml加え、ポッター-エルベージェム(Potter-Elvehjem)ホモジナイザーでホモジナイズ(テフロンペストルで10往復)する。得られたホモジネート液をガーゼ(6重折り)で濾過し、濾液を得る。濾液を10,000×gで20分間遠心分離し、上清をさらに10

5,000×gで45分間遠心分離し沈澱物を得る。沈澱物にシュクロース緩衝液20mlを加え、再びホモジナイズしたホモジネート液をラット肝ミクロソーム分画(以下、酵素標品と称する。)とする。

【0012】(2)アシル補酵素A：コレステロールアシル転位酵素阻害活性の測定

0.1Mリン酸カリウム緩衝液(pH7.4)(以下、緩衝液と称する。)1.59mlに検体を溶解させ、脂肪酸フリーの牛血清アルブミン(700mg/100ml緩衝液)1.5ml、コレステロール(7.2mg/mlアセトン)50 $\mu$ l、オレイル-C<sub>6</sub>A(2.6mg/ml緩衝液)360 $\mu$ lおよび酵素標品1.5mlを加え、総量5.0mlで30℃、2時間反応させる。対照として検体を含まないものを同様に反応させる。反応混合物にクロロホルム：メタノール=2:1(v/v)5mlを加え、反応を停止させる。さらにクロロホルム：メタノール=2:1を24ml加え、よく攪拌後、3000rpmで5分間遠心分離し、下層を20ml抜き取り減圧乾固する。これにn-ヘキサン10mlを加え、セップーバックカートリッジ(sep-pak cartridge, ウォータース社製)に吸着させる。n-ヘキサン10mlで一度洗浄後、n-ヘキサン：ジエチルエーテル=75:25(v/v)10mlで溶出し、減圧下に溶媒を留去後、アセトニトリル：イソプロピルアルコール=1:1(v/v)100 $\mu$ lを加え、20 $\mu$ lを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で、オレイルコレステロールを定量する。これより検体濃度100 $\mu$ g/mlでの阻害率を算出した。その結果を表1に示す。

【0013】

表1

検体	阻害率(%)
チミン	82
ウラシル	79
シトシン	84
アデニン	84
グアニン	81
ヒポキサンチン	65
チミジン	77
ウリジン	55
シチジン	48
アデノシン	35
グアノシン	60
イノシン	44
グアニル酸	67
イノシン酸	76

【0014】

【発明の効果】ビリミジン塩基、プリン塩基、ビリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌクレオシドまたはビリミジンもしくはプリン塩基を構成成分とするヌ

クレオチドは、アシラー補酵素A：コレステロールアシ  
ル転位酵素の阻害作用を有するため、動脈硬化症の関連

する諸疾患の予防、治療に有用である。

---

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

F 1

技術表示箇所

C 0 7 H 19/16

BEST AVAILABLE COPY